



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper Betle L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HITUNG JENIS LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR
JANTAN YANG DIPAPAR *Candida albicans* SECARA INTRAKUTAN
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S 1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Qurrotul Aini

NIM. 071610101086

**BAGIAN ILMU PENYAKIT MULUT
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tuaku tersayang, Bapak Abdul Salam, S.Pd dan Ibu Mamik Pujiastuti atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
2. “Nechan” tercinta, Mbak Titi yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
3. Dosen-dosen pembimbing skripsi drg. Erna Sulistyani, M.Kes., drg. Budi Yuwono, M.Kes, dan drg. Abdul Rochim, M. Kes, MMR.
4. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Dan, barangsiapa bertakwa kepada Allah, niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar. Dan memberinya rizki dari arah yang tidak disangka-sangka. Dan barangsiapa bertawakkal kepada Allah niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya.”

(QS. Ath-Thalaq : 3)

“Satu-satunya orang yang tidak membuat kesalahan adalah orang yang tidak berbuat apa-apa. Jangan takut kepada kesalahan!”

(Roosevelt)

Kadang kita terlalu mudah menangis terhadap apa yang kita tidak punya, bersedih atas apa yang gagal kita raih, dan kita memelas terhadap semua yang menimpa kita, tetapi kita tidak pernah mensyukuri atas apa yang masih ada dan yang masih banyak.

(DR. Aidh Al Qarni)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Qurrotul Aini

NIM : 071610101086

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi yang berjudul: *Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) Terhadap Perubahan Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Candida albicans Secara Intrakutan* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Februari 2012

Yang menyatakan,

Qurrotul Aini

NIM.071610101086

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper Betle L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HITUNG JENIS LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR
JANTAN YANG DIPAPAR *Candida albicans* SECARA INTRAKUTAN
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

Oleh

**Qurrotul Aini
NIM. 071610101086**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Erna Sulistyani, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Budi Yuwono, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) Terhadap Perubahan Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Candida albicans Secara Intrakutan* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Kamis, 2 Februari 2012

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

drg. Erna Sulistyani, M. Kes

NIP. 196711081996012001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Budi Yuwono, M. Kes

NIP. 196709141999031002

drg. Abdul Rochim, M. Kes, MMR

NIP. 195804301987031002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. Hj. Herniyati, M. Kes

NIP. 195909061985032001

RINGKASAN

Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Perubahan Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida albicans* Secara Intrakutan: Qurrotul Aini, 071610101086; 2012; 57 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Alam Indonesia sangat kaya dengan berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat, namun pemanfaatan berbagai tanaman obat tersebut belum dilakukan secara optimal. Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai tanaman obat adalah daun sirih (*Piper Betle L.*). Pada daun sirih terdapat fenol alam yang mempunyai daya fungisid yang sangat kuat tetapi tidak sporosid (Elya dan Soemiati, 2002).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya perubahan hitung jenis leukosit darah tepi pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* intrakutan setelah diberi ekstrak daun sirih secara peroral. Penelitian ini dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol (kelompok I), kelompok perlakuan yang diberi *Candida albicans* (kelompok II), dan kelompok perlakuan yang diberi *Candida albicans* dan ekstrak daun sirih secara peroral sebanyak 3 ml / 200 gr BB (kelompok III).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat peningkatan presentase hitung jenis leukosit untuk limfosit dan penurunan segmen neutrofil pada kelompok yang dipapar *candida* dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Differential counting pada kelompok yang diberi ekstrak daun sirih tidak berbeda secara signifikan baik dengan kelompok kontrol maupun kelompok yang dipapar *candida* saja ($p > 0,05$). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa tidak ada efek pemberian ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) 75%, 3 ml terhadap pergeseran hitung jenis leukosit pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* dengan injeksi pada intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB.

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala anugerah dan karunia-Nya yang telah memberikan kemampuan dan kemudahan berpikir sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Perubahan Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida albicans* Secara Intrakutan” Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran Gigi (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan motivasi berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah berkenan memberikan kesempatan bagi penulis hingga selesainya penulisan ini;
2. drg. Erna Sulistyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu, pengarahan, dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini;
3. drg. Budi Yuwono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pengarahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini;
4. drg. Abdul Rochim, M. Kes, MMR selaku Sekretaris Penguji;
5. drg. Dessy Rachmawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik;
6. drg. Ristya Widi Endah Yani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik;
7. Orang Tua terhebatku, Bapak Abdul Salam, S.Pd dan Ibu Mamik Pujiastuti atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya kepada ananda;
8. “Nechan”, Mbak Titi yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;

9. Seluruh Keluarga Besar Alm. H. Tuhfah Rosyid dan Alm. H. Bustami atas doa dan dukungannya selama ini;
10. Sahabat-sahabatku: Rissa, Yasinta, Heryun, Dewi, Yanti. Terima atas dukungan dan waktu yang telah diberikan untuk mendengarkan semua cerita selama ini;
11. Rekan seperjuangan dalam penelitian ini : Sisca Hermawati dan Pritasari Putri. Terima kasih atas kerja sama, bantuan, dan dukungan yang diberikan;
12. Seluruh keluarga besar Kos Pagah : Mbak Dewati, Mbak Mah, Sofi, Dek Nada, Kembar Afi Azmi, Dek Farah. Terima kasih atas rasa kekeluargaan dan keceriaan yang telah diberikan selama ini;
13. Mas Agus, Pak Dul, Pak Pin, dan petugas Laboratorium Dinas Kesehatan UPT. Jember Medical Center yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini;
14. Seluruh karyawan dan staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah banyak membantuku;
15. Rekan-rekan angkatan 2007, terima kasih atas kerja samanya dan semoga kita sukses selalu;
16. Guru-guruku terhormat mulai TK, SD, SMP, SMA hingga Perguruan Tinggi yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya;
17. Peserta seminarku dan semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini;

Penulis telah berupaya sekuat tenaga dan pikiran dalam pembuatan dan penyempurnaan skripsi ini. Mudah-mudahan dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Jember, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sirih	4
2.1.1 Morfologi.....	4
2.1.2 Tata Nama (Taksonomi).....	5
2.1.3 Sifat dan Kandungan Daun Sirih.....	5
2.1.4 Manfaat Daun Sirih.....	6
2.2 Candida Albicans	7

2.2.1 Pengertian	7
2.2.2 Tata Nama (Taksonomi)	8
2.2.3 Patogenesisa	9
2.3 Leukosit	10
2.4 Tikus Wistar	17
2.5 Hitung Jenis Leukosit	18
2.6 Kerangka Konsep penelitian	21
2.7 Penjelasan Kerangka Konsep.....	21
2.8 Hipotesis.....	22
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian	23
3.2.1 Tempat Penelitian	23
3.2.2 Waktu Penelitian	23
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas	23
3.3.2 Variabel Terikat	24
3.3.3 Variabel Kendali	24
3.4 Definisi Operasional.....	24
3.4.1 Ekstrak daun sirih	24
3.4.2 Hitung Jenis Leukosit	24
3.4.3 Darah Tepi	25
3.4.4 Candida albicans.....	25
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian.....	25
3.5.1 Populasi	25
3.5.2 Sampel	25
3.5.3 Besar Sampel	25
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	26

3.6.1 Alat Penelitian	26
3.6.2 Bahan Penelitian	27
3.7 Prosedur Penelitian	27
3.7.1 Tahap persiapan Hewan Coba.....	27
3.7.2 Persiapan Daun Sirih	27
3.7.3 Tahap Persiapan <i>Candida albicans</i>	28
3.7.4 Tahap Perlakuan Hewan Coba	29
3.7.5 Tahap Pengambilan Darah.....	29
3.7.6 Pengukuran Hitung Jenis Leukosit	31
3.8 Analisis Data	32
3.9 Skema Penelitian	33
BAB.4 HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil.....	34
4.2 Analisa Data	36
4.3 Pembahasan.....	37
BAB. 5 KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR BACAAN	42
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Pada Sampel Kelompok I, II, III.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daun Sirih.....	4
2.2 <i>Candida albicans</i>	8
2.3 Eosinofil.....	11
2.4 Basofil.....	12
2.5 Neutrofil.....	13
2.6 Limfosit.....	14
2.7 Monosit.....	15
3.1 Cara Pengenceran <i>C. albicans</i>	29
3.2 Skema Penelitian.....	33
4.1 Diagram Batang rata-rata hasil hitung jenis leukosit.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Penghitungan Besar Sampel.....	45
B. Data Hasil Pengukuran Hitung Jenis Leukosit	
Darah Tikus Wistar Jantan.....	46
C. Hasil Analisa Data.....	47
C.1 Uji <i>Kolmogorof Smirnov</i>	47
C.2 Uji <i>Levene Test</i>	47
C.3 Uji <i>One Way Annova</i>	49
C.4 Uji <i>Tukey HSD</i>	50
D. Foto Penelitian.....	53
D.1 Alat Penelitian.....	53
D.2 Bahan Penelitian.....	54
D.3 Perlakuan.....	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Alam Indonesia sangat kaya dengan berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat, namun pemanfaatan berbagai tanaman obat tersebut belum dilakukan secara optimal. Hal ini disebabkan karena adanya anggapan bahwa pengobatan tradisional adalah pengobatan kuno dan ketinggalan zaman. Penggunaan tanaman untuk pengobatan telah lama dikenal oleh masyarakat. Usaha pengembangan tanaman untuk pengobatan perlu dilakukan mengingat bahwa tanaman mudah diperoleh dan murah, tetapi penggunaan tanaman untuk pengobatan perlu ditunjang oleh data-data penelitian dari tanaman tersebut sehingga khasiatnya secara ilmiah tidak diragukan lagi dan dapat dipertanggungjawabkan. Hal ini tentu akan lebih mendorong penggunaan tanaman sebagai obat secara meluas oleh masyarakat (Elya dan Soemiati, 2002)

Di bidang kedokteran gigi infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* seringkali ditemui. Kandidiasis merupakan penyakit infeksi yang memiliki prevalensi yang cukup tinggi. Gaya hidup yang tidak sehat menyebabkan semakin meningkatnya penyakit infeksi tersebut. Penyebab kandidiasis di rongga mulut yang paling sering adalah oral hygiene yang buruk, AIDS, pemakaian antibiotic spektrum luas yang berkepanjangan, penggunaan kortikosteroid, penyakit diabetes mellitus kronis, faktor traumatik pemakaian denture, kehamilan, diet tinggi karbohidrat dan tinggi gula, keseimbangan hormonal tubuh menurun. Biasanya orang akan berobat apabila kandidiasis yang diderita telah parah, hal ini antara lain disebabkan karena mahalnya harga obat-obatan (Winarto dan Wibowo, 2004).

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai tanaman obat adalah daun sirih (*Piper Betle L.*). Sirih merupakan tanaman asli Indonesia yang tumbuh merambat atau bersandar pada batang pohon lain. Sebagai budaya daun dan buahnya biasa dimakan dengan cara mengunyah bersama gambir, pinang dan kapur. Sirih digunakan sebagai tanaman obat (fitofarmaka); sangat berperan dalam kehidupan dan berbagai upacara adat rumpun Melayu (Anonim, 2007). Secara tradisional sirih dipakai sebagai obat sariawan, sakit tenggorokan, obat batuk, obat cuci mata, obat keputihan, pendarahan pada hidung/mimisan, mempercepat penyembuhan luka, menghilangkan bau mulut dan mengobati sakit gigi (Elya dan Soemiati, 2002). Daun sirih mempunyai aroma yang khas karena mengandung minyak atsiri 1-4,2%, air protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C yodium, gula dan pati. Dari berbagai kandungan tersebut, dalam minyak atsiri terdapat fenol alam yang mempunyai daya fungisid yang sangat kuat tetapi tidak sporosid (Elya dan Soemiati, 2002). Selain itu, keuntungan menggunakan sirih sebagai tanaman obat adalah mudah didapat dan harganya yang murah. Penggunaan sirih sebagai obat bisa digunakan secara topical maupun dengan meminum rebusan daun sirih.

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis akan meneliti efek ekstrak daun sirih terhadap hitung jenis leukosit darah tepi tikus wistar jantan yang dipapar jamur *Candida albicans* secara intrakutan. Pemberian ekstrak daun sirih diharapkan dapat menangani infeksi dari *Candida albicans*. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap hitung jenis leukosit darah tepi pada tikus yang diberi dan tidak diberi daun sirih. Peneliti mencoba mengamati perubahan hitung jenis leukosit darah tepi karena hitung jenis leukosit darah tepi dapat menggambarkan respon imun. Metode eksperimental laboratoris dipilih karena sampel, perlakuan dan pengaruh perlakuan dapat dikendalikan dan terukur.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, dapat dirumuskan permasalahan yaitu bagaimana persentase hitung jenis leukosit darah tepi pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* intrakutan setelah diberi ekstrak daun sirih secara peroral.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perubahan persentase hitung jenis leukosit darah tepi pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* intrakutan setelah diberi ekstrak daun sirih secara peroral.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi ilmiah tentang efek ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) terhadap perubahan hitung jenis leukosit darah tepi.
2. Hasil dari penelitian dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sirih

2.1.1 Morfologi



Gambar 2.1. Daun sirih

Sumber : <http://id.wikipedia.org/wiki/Sirih>

Sirih merupakan tanaman merambat yang mencapai ketinggian hingga 15 m dan mempunyai batang berwarna coklat kehijauan yang beruas-ruas sebagai tempat keluarnya akar. Daun berbentuk jantung, tumbuh secara selang-seling, bertangkai dan memiliki daun pelindung. Jika diremas, daun akan mengeluarkan aroma yang sedap.

Bunga berupa bulir, terdapat di ujung cabang dan berhadapan dengan daun. Buah sirih berbentuk bulat dan berbulu. (Mursito, 2002)

Varietas yang banyak digemari dan dijual dibanyak tempat adalah sirih Jawa yang warna daunnya hijau rumput atau kekuning-kuningan dan kalau dikunyah rasanya pedas (Muslich, 1999). Di Indonesia, terdapat 4 macam sirih yaitu 1) daun sirih berwarna hijau tua, rasa pedas merangsang (banyak terdapat di Jawa Tengah dan Jawa Timur), 2) daun sirih berwarna kuning (banyak terdapat di Sumatera dan Jawa Barat), 3) sirih kaki meranti, daun berwarna kuning dengan tulang daun merah, dan 4) sirih hitam yang ditanam khusus untuk obat. (Handayani, 2002)

2.1.2 Tata Nama (taksonomi)

Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: Piper betle linn (Sudarmo, 2005)

2.1.3 Sifat dan Kandungan Senyawa Aktif Daun Sirih

Kandungan kimia yang terdapat pada daun sirih terdiri dari minyak atsiri, hidrosikavikol, kavikol, kavibetol, allylprokatekol, karvakrok, eugenol, p-cymene, cineole, catyofelen, kadimen estragol, terpenena, fenil propada, tannin, dan sebagainya. Karena kelengkapan kandungan senyawa kimia yang bermanffat inilah, daun sirih memiliki manfaat yang sangat luas sebagai bahan obat (Astrini, 2001).

Minyak atsiri dari daun sirih mengandung seskuiterpen, pati, diatase, gula dan zat samak dan kavikol yang memiliki daya mematikan kuman, antioksidasi dan fungisida. Daun sirih juga bersifat menahan perdarahan, menyembuhkan luka pada kulit, dan gangguan saluran pencernaan. Selain itu sirih juga bersifat mengerutkan, mengeluarkan dahak, meluruhkan ludah, hemostatik, dan menghentikan perdarahan (Sudarmo, 2005).

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap dan mengandung aroma atau wangi yang khas. Minyak atsiri dari daun sirih mengandung 30% fenol dan beberapa derivatnya. Kavikol merupakan komponen paling banyak dalam minyak atsiri yang memberi bau khas pada sirih. Persenyawaan fenol ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan minyak atsiri dari daun sirih juga dapat digunakan sebagai antijamur dan antioksidan). Minyak atsiri dari daun sirih terdiri dari kavikol, eugenol, dan sineol, dilihat dari strukturnya senyawa-senyawa tersebut tidak atau kurang larut dalam pelarut polar, sehingga pada fraksinasi digunakan pelarut non polar dan semi polar (Parwata, 2009).

Saat ini data mengenai aktivitas tanaman obat lebih banyak didukung oleh pengalaman, belum sepenuhnya dibuktikan secara ilmiah. Guna pemeliharaan dan pengembangan tanaman obat maka diperlukan adanya penggalian, penelitian, pengujian, dan pengembangan obat tradisional, tidak terkecuali sirih yang cukup terkenal sebagai obat mujarab itu (Moeljatno, 2003). Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan diketahui bahwa minyak atsiri dapat meredam radikal bebas, melalui uji aktivitas peredaman radikal bebas secara UV-Tampak yaitu sebesar 81,91% (Parwata, 2009).

2.1.4 Manfaat Daun Sirih

Sirih (*Piper betle L.*) termasuk tanaman obat yang sering digunakan, ini dikarenakan khasiatnya untuk menghentikan pendarahan, sariawan, gatal-gatal dan

lain-lain. Ekstrak daun sirih digunakan sebagai obat kumur dan batuk. Ekstrak daun sirih juga berkhasiat sebagai antijamur pada kulit. Khasiat obat ini dikarenakan senyawa aktif yang dikandungnya terutama adalah minyak atsiri (Moeljatno, 2003)

Secara tradisional sirih dipakai sebagai obat sariawan, sakit tenggorokan, obat batuk, obat cuci mata, obat keputihan, pendarahan pada hidung/mimisan, mempercepat penyembuhan luka, menghilangkan bau mulut dan mengobati sakit gigi (Elya dan Soemiati, 2002).

2.2 Candida albicans

2.2.1 Pengertian

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ hingga $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$ (Hendrawati, 2010).

C. albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa *strain*, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar $8-12 \mu$. (Hendrawati,2010)



Gambar 2.2 *Candida albicans*

Sumber : <http://www.doctorfungus.org/thefungi/img/candida.jpg>

Candida species adalah anggota flora normal selaput lendir, saluran nafas, saluran cerna, dan genital wanita. Pada tempat ini jamur dapat menjadi dominan dan dihubungkan dengan keadaan-keadaan pathogen. Spesies tersebut antara lain adalah *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida crusei*, dan *Candida albicans*. Semua spesies itu dapat menyebabkan infeksi rongga mulut, tetapi yang tersering adalah *Candida albican*. (Lewis,1993)

2.2.2 Tata Nama (taksonomi)

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>
Sinonim	: <i>Candida stellatoidea</i> dan <i>Oidium albicans</i> (Hendrawati,2010)

2.2.3 Patogenesis *C. albicans*

Pada manusia, *C. albicans* sering ditemukan di dalam mulut, feses, kulit dan di bawah kuku orang sehat. *C. albicans* dapat membentuk blastospora dan hifa, baik dalam biakan maupun dalam tubuh. Bentuk jamur di dalam tubuh dianggap dapat dihubungkan dengan sifat jamur, yaitu sebagai saproba tanpa menyebabkan kelainan atau sebagai parasit patogen yang menyebabkan kelainan dalam jaringan (Hendrawati,2010).

Penyelidikan lebih lanjut membuktikan bahwa sifat patogenitas tidak berhubungan dengan ditemukannya *C. albicans* dalam bentuk blastospora atau hifa di dalam jaringan. Terjadinya kedua bentuk tersebut dipengaruhi oleh tersedianya nutrisi, yang dapat ditunjukkan pada suatu percobaan di luar tubuh. Pada keadaan yang menghambat pembentukan tunas dengan bebas, tetapi yang masih memungkinkan jamur tumbuh (Hendrawati,2010).

Candidiasis adalah suatu infeksi dari jamur. Jenis jamur yang menginfeksi adalah dari genus *Candida*. Biasanya, infeksi ini berupa superfisial dari daerah kutaneus tubuh yang lembab. Infeksi paling sering disebabkan oleh *Candida albicans*. Infeksi ini sering menyerang kulit (*dermatokandidiasis*), membran mukosa mulut (*thrush*), saluran pernapasan (*bronkokandidiasis*), dan vagina (*vaginitis*). Dari jamur-jamur ini, jarang sekali terdapat infeksi sistemik atau endokarditis (Candra, 2009).

Ada pula jenis infeksi dari *Candida* yang kronis seperti pada kelainan imunodefisiensi selular pada kulit dan membran mukosa. Cirinya adalah terdapat alergi kutaneus, dan pada beberapa kasus terjadi pula aktivasi limfosit atau produksi faktor penghambat migrasi yang berkurang. Kedua kekurangan ini sebagai respon terhadap antigen *Candida*. Selain itu, aktivitas humoral terjadi secara normal. Banyak penderita infeksi ini juga disertai endokrinopati (penyakit Addison, hipoparatiroidisme, hipotiroidisme, atau diabetes melitus) (Candra, 2009).

Jamur ini dapat menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya menurun. *Candida species* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis atau infeksi pada mata dan organ lain bila dimasukkan intravena (Jawetz.,1996)

2.3 Leukosit

Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang mengandung inti. Dalam darah manusia normal terdapat jumlah leukosit rata-rata 5000-9000 sel permilimeter kubik (Leeson, 1996). Menurut Guyton (1995) orang dewasa mempunyai kira-kira 7000 leukosit permilimeter kubik darah. Persentase normal berbagai jenis leukosit kira-kira sebagai berikut:

Neutrofil polimorfonuklear 62,0%

Eosinofil polimorfonuklear 2,3%

Basofil polimorfonuklear 0,4%

Monosit polimorfonuklear 5,3%

Limfosit polimorfonuklear 30,0%

Jumlah trombosit yang hanya merupakan fragmen sel dalam tiap-tiap milimeter kubik darah normal sekitar 300.000. Menurut Widmann (1995) terjadinya peningkatan atau penurunan presentase hitung jenis leukosit dapat menggambarkan keadaan inflamasi, kelainan imunologik, dan keganasan.

Leukosit merupakan nama lain untuk sel darah putih. Leukosit berfungsi mempertahankan tubuh dari serangan penyakit dengan cara memakan (fagositosis) penyakit tersebut. Itulah sebabnya leukosit disebut juga fagosit. Leukosit mempunyai bentuk yang berbeda dengan eritrosit. Bentuknya bervariasi dan mempunyai inti sel bulat ataupun cekung. Gerakannya seperti Amoeba dan dapat menembus dinding kapiler. (Muziro, 2010)

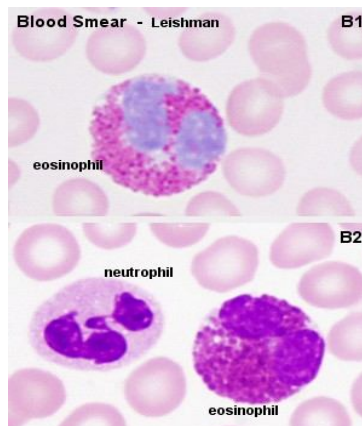
Leukosit mengalami peningkatan apabila kelenjar adrenal dirangsang, baik secara farmakologis maupun sebagai respons terhadap kebutuhan fisiologis. Sebagian

besar stimulus fisiologis seperti olah raga, stress, pemaparan terhadap suhu yang ekstrim, mengakibatkan leukositosis dengan cara merangsang pengeluaran epinefrin. Penurunan leukosit tampak pada keadaan myeloid hypoplasia, pemberian obat-obatan seperti Chloramphenicol, benzena, megaloblastik anemia. Sistem imun yang terganggu dapat menimbulkan perubahan fungsi imun khususnya pada sistem imun seluler, misal limfosit, basofil, sel mast, platelet, neutrofil, eosinofil dan makrofag. (Widmann,1995)

Terdapat dua golongan utama leukosit yaitu agranular dan granular. Leukosit agranular mempunyai sitoplasma yang tampak homogen dan intinya berbentuk bulat atau ginjal. Ada dua macam leukosit agranular yaitu limfosit dan monosit. Leukosit granular mempunyai granular spesifik dalam sitoplasmanya dan mempunyai inti yang memperlihatkan banyak variasi bentuk. Leukosit granular terdiri dari tiga macam yaitu neutrofil, eosinofil dan basofil (Leeson,1996).

Menurut Widmann (1995), nilai normal sel darah putih manusia adalah adalah 4,5-11 ribu/mm³. Dan nilai normal sel darah putih untuk tikus strains wistar jantan berkisar antara 6,1-10,5 x 10³/μl darah (Baker, 1976). Dalam keadaan normal hanya ditemukan enam jenis sel darah putih yaitu eosinofil, basofil, stab neutrofil, segmen neutrofil, limfosit dan monosit.

a. Eosinofil



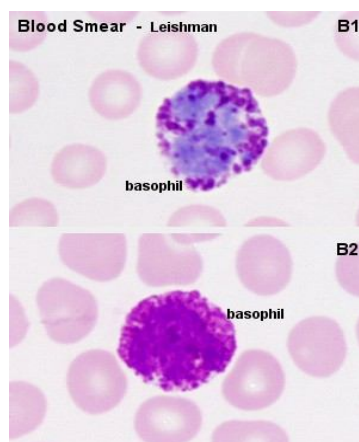
Gambar 2.3 Eosinofil

Sumber : <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>

Eosinofil adalah granulosit dengan inti yang terbagi dua lobus dan sitoplasma bergranula kasar, refraktil dan berwarna merah tua oleh zat warna yang bereaksi asam yaitu eosin. Walaupun mampu melakukan fagositosis, eosinofil tidak mampu membunuh kuman. Eosinofil mengandung berbagai enzim yang menghambat mediator inflamasi akut dan seperti halnya neutrofil mengandung histamine. Peran biologis neutrofil adalah modulasi aktivitas seluler dan kimiawi yang berkaitan dengan inflamasi akibat reaksi imunologik. Eosinofil juga mempunyai kemampuan unik untuk merusak larva cacing tertentu (Widmann,1995).

Eosinofil pada manusia mengandung komponen-komponen yaitu : 1) Myeloperoksidase, dimana heme proteinnya berbeda dengan yang ada pada neutrofil yaitu pada sifat biokimia dan genetiknya. Ia mempunyai beberapa fungsi selain untuk mmebunuh bakteri. 2) Kationik protein, mempunyai berat molekul 21,000, mengandung 2,6 mol zinc/mol protein dan bersifat antibakteri, menimbulkan kontraksi otot polos dan mempunyai aktifitas eseterolitik, di samping ini terdapat Kristal Charcot-Lyden, dengan berat molekul lebih kecil. Fungsi dari Kristal ini masih belum diketahui. 3) Glukoronidase. 4) Asam β Gliserofosfatase. Eosinofil pada manusia tidak mengandung lisosom atau alkalin fosfatase (Leeson, 1996).

b. Basofil



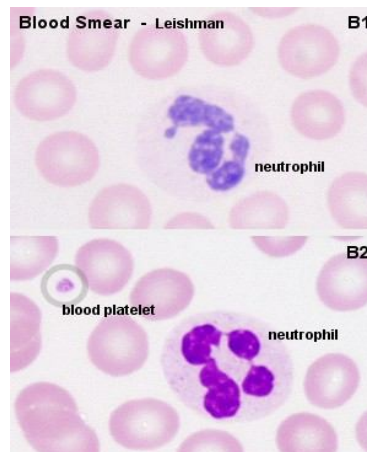
Gambar 2.4 Basofil

Sumber : <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>

Pada keadaan normal, jumlah basofil dalam sirkulasi hanya 1% dari jumlah leukosit. Granula sel ini kasar dan berwarna biru tua bila diwarnai dengan zat warna yang bereaksi basa, dan bila diwarnakan dengan zat warna metakromatik, granulanya berwarna terang. Granula basofil mengandung mukopolisakarida, asam hialuronat dan histamine. Fungsi basofil dalam sirkulasi tidak diketahui. Sel yang mirip basofil sangat banyak terdapat dalam kulit, dalam mukosa saluran nafas dan jaringan ikat. Permukaan sel basofil jaringan dilapisi oleh immunoglobulin E (IgE), tetapi tidak demikian halnya dengan basofil dalam darah; immunoglobulin ini dapat bereaksi dengan allergen yang kemudian mengakibatkan granula melepaskan mediator vasoaktif (Widmann,1995).

Basofil dapat ditemukan dalam jumlah kecil pada darah tepi dan mudah dikenali melalui granula-granula hitam-ungu yang sangat kasar yang mengisi sitoplasma dan sering menutupi inti. Secara fungsional melepaskan histamine, zat seperti heparin. Basofil dapat menyebabkan tertundanya pembekuan pada tempat lesi peradangan (Thomson,1997)

c. Neutrofil



Gambar 2.5 Neutrofil

Sumber : <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>

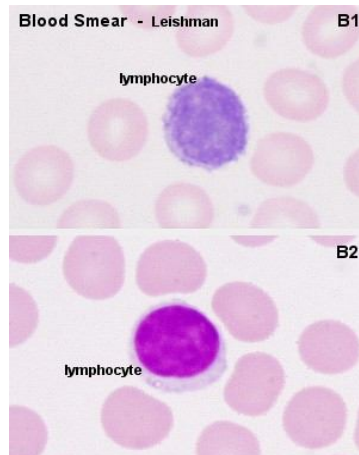
Neutrofil termasuk leukosit polimorfonuklear (PMN) yang tumbuh dalam sumsum tulang dari sel leluhurnya ialah sel induk (stem cell). Populasi neutrofil dalam darah paling banyak sekitar 65-75% dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1996). Neutrofil muda berbentuk batang memiliki inti tanpa segmen dengan bentuk tapal kuda. Neutrofil membentuk pertahanan terhadap invasi mikroorganisme, terutama bakteri serta merupakan fagosit aktif terhadap partikel (Junqueira 1998).

Granula yang terdapat dalam sitoplasma neutrofil bereaksi baik dengan zat warna basa maupun asam. Pada sediaan hapusan yang diwarnakan dengan pulasan Wright, yaitu pulasan yang paling banyak digunakan, granula itu membentuk warna netral atau biru. Pada sel yang matang, kromatin inti memadat membentuk gumpalan atau lobus, yang dihubungkan satu dengan yang lain oleh benang-benang halus. (Widmann, 1995).

Neutrofil adalah sel yang bergerak aktif, dan dalam waktu singkat dapat berkumpul dalam jumlah banyak di tempat jaringan yang rusak. Proses Bergeraknya sel sebagai respons terhadap rangsangan spesifik disebut kemotaksis. Produk mikroba, produk sel-sel yang rusak, dan produk protein plasma dapat mengakibatkan efek kemotaksis pada neutrofil. Neutrofil merupakan garis pertahanan yang pertama bila ada kerusakan jaringan atau bila ada benda asing masuk (Widmann, 1995).

d. Limfosit

Sel-sel ini mencakup hampir separuh dari populasi leukosit dalam darah tepi. Sebagian besar berukuran kecil, sekitar 10 μm , hampir seluruhnya terdiri dari inti, dengan tepi yang tipis dari sitoplasma biru yang kadang-kadang mengandung granula azurofilik yang tersebar. Sebagian besar limfosit ditemukan dalam limfonodus, limpa, sumsum tulang dan timus (Thomson, 1997). Menurut Widmann (1995), sekitar 75-80% limfosit yang terdapat dalam sirkulasi pada orang dewasa sehat adalah limfosit T, sedangkan 10-15% adalah limfosit B.



Gambar 2.6 Limfosit

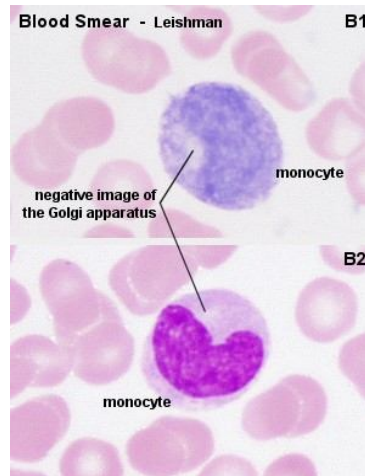
Sumber : <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>

Limfosit T, yaitu sel yang bertanggung jawab terhadap berlangsungnya imunitas seluler dan respon imunologik, beredar lebih ekstensif daripada limfosit B. Limfosit B yang dapat berubah menjadi sel yang memproduksi antibodi atas rangsangan yang sesuai, sebagian besar tetap berada di dalam dan di sekitar folikel-folikel kelenjar limfe dan berumur beberapa minggu hingga beberapa bulan (Widmann,1995).

Fungsi limfosit terutama berkaitan dengan mekanisme pertahanan imun, yaitu:

1. Imunitas selular. Hipersensitivits tertunda, reaktivitas tandur (graft) terhadap pejamu (host) dan penolakan tandur.
2. Produksi antibodi humoral dan immunoglobulin. Setelah diproduksi dalam sumsum tulang, sel-sel B ini menempati sentrum germinativum dan zona perifer dari limfonodus. (Thomson,1997).

e. Monosit



Gambar 2.7 Monosit

Sumber : <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>

Monosit dibentuk oleh sel induk (stem cell) di dalam sumsum tulang. Dalam sumsum tulang mereka mengalami proliferasi dan dilepaskan ke dalam darah sesudah fase monoblas – fase promonosit – fase monosit. Monosit berjumlah 3-8% dari leukosit normal darah dan merupakan sel darah yang paling besar, intinya berbentuk lonjong atau mirip ginjal. Sitoplasma banyak berwarna biru pucat dan mengandung granula merah jambu. Diameternya 9-10 μm tetapi pada hapusan darah kering menjadi pipih, mencapai diameter 20 μm atau lebih (Leeson, 1996).

Monosit berasal dari sel induk yang sama dengan sel induk granulosit; sel ini mengalami maturasi di dalam sumsum tulang, beredar sebentar kemudian masuk ke dalam jaringan dan menjadi makrofag. Sel ini mampu bergerak, melakukan fagositosis, mensekresi enzim, mengenal partikel dan melakukan interaksi yang kompleks dengan imunogen dan komponen seluler, maupun protein dalam sistem imun (Widmann, 1995).

Fungsi monosit belum diketahui dengan baik tetapi bersifat fagositik dan berkembang menjadi makrofag jaringan; setelah bermigrasi dari darah ke suatu lesi

peradangan tampaknya berproliferasi di sini, dan berinteraksi dengan limfosit (Thomson 1997).

2.4 Tikus Wistar

Taksonomi tikus wistar adalah sebagai berikut :

Kelas : *Mamalia*
Sub kelas : *Thera*
Infra kelas : *Eutheria*
Ordo : *Rodentia*
Sub ordo : *Myomorpha*
Super family : *Muroidea*
Family : *Mundae*
Genus : *Ratus*
Spesies : *norvegicus*

Tikus putih telah digunakan secara ekstensif sebagai hewan coba untuk mempelajari keadaan biologi dan patologi dari jaringan rongga mulut. Spesies ini telah berguna dalam penelitian kedokteran gigi untuk menjelaskan informasi biologi yang berharga, untuk membuktikan pengertian dari mekanisme dasar proses penyakit. Disamping itu juga sebagai fasilitas untuk eksperimen secara klinik dan epidemiologi yang dimaksudkan untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia (Baker, 1976).

2.5 Hitung Jenis Leukosit

Hitung jenis leukosit (differential counting) menunjukkan jumlah relative dari masing-masing jenis sel. Untuk mendapatkan jumlah absolute dari masing-masing jenis sel maka nilai relative (%). Hitung jenis leukosit berbeda tergantung umur. Pada anak, limfosit lebih banyak dari neutrofil segmen, sedang pada orang dewasa kebalikannya. Hitung jenis leukosit juga bervariasi dari satu sediaan hapus ke sediaan lain, dari satu lapangan ke lapangan lain. Kesalahan karena distribusi ini dapat mencapai 15%. Bila pada hitung jenis leukosit, didapatkan eritrosit berinti lebih dari 10 per 100 leukosit, maka jumlah leukosit tidak perlu dikoreksi (Dharma,2009)

Hitung jenis ini seringkali diabaikan bila jumlah leukosit normal, dan tidak ada kelainan hematologik baik klinis maupun laboratoris. Namun demikian, banyak kelainan seperti keganasan, inflamasi, dan kelainan imunologik menyebabkan perubahan persentase ini walaupun jumlah sel masih dalam batas normal (Widmann,1995).

Hitung jenis leukosit dilakukan pada daerah penghitung (*Counting Area*). Dimulai satu sisi dan bergerak menuju sisi yang lain. Lalu pindah sejauh 2-3 lapang pandang. Untuk memudahkan penghitungan dibuat kolom untuk berbagai leukosit dan masing-masing dibagi menjadi 10. Leukosit yang kita lihat mula-mula dicatat dalam kolom 1 (tabel 2.1). Bila jumlahnya sudah sepuluh, pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya. Jadi tiap-tiap kolom mengandung 10 leukosit. Bila ke 10 kolom sudah terisi, kita telah mendapatkan 100 sel (Sulistiyani, 2005).

Tabel 2.1 kolom hitung jenis leukosit (Sulistiyani,2010)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
Eo											
Ba											
St											
Seg											
Ly											
Mo											

Dalam keadaan abnormal pada hitung jenis leukosit dapat ditemukan penyimpangan persentasenya. Limfosit meningkat pada penyakit infeksi misalnya batuk rejan, siphilis, tuberculosis, hepatitis; kelainan metabolik misalnya hiperadrenalisme dan hipertiroidisme; inflamasi kronik misalnya colitis ulseratif dan penyakit imunologi. Limfosit mengalami penurunan pada keadaan sindrom defisiensi imunologi misalnya pada terapi immunosupresif, pemamaparan adenokortikosteroid misalnya pada hiperadrenalisme, terapi steroid, tumor kelenjar pituitary yang memproduksi ACTH; penyakit berat misalnya jantung dan gagal ginjal; gangguan sirkulasi limfe misalnya pada kelainan mukosa intestinal (Widmann, 1995).

Kenaikan hitung jenis neutrofil dapat terjadi pada keadaan stress (emosional dan fisik), sebagian penyebab peradangan akut dan kronis, infeksi, tumor, obat (steroid, spinefrin, litium), perdarahan, dan anemia hemolitik (Waterbury, 1998). Selain itu neutrofil juga dapat meningkat saat terjadi infeksi akibat adanya fungus bila ada nekrosis akut. Neutrofil mengalami penurunan pada penyakit infeksi: bakteri, virus, protozoa; bahan kimia dan fisika; hipersplenisme: penyakit hati; kelainan lain: defisiensi asam folat dan vitamin B₁₂ berat (Widmann, 1995).

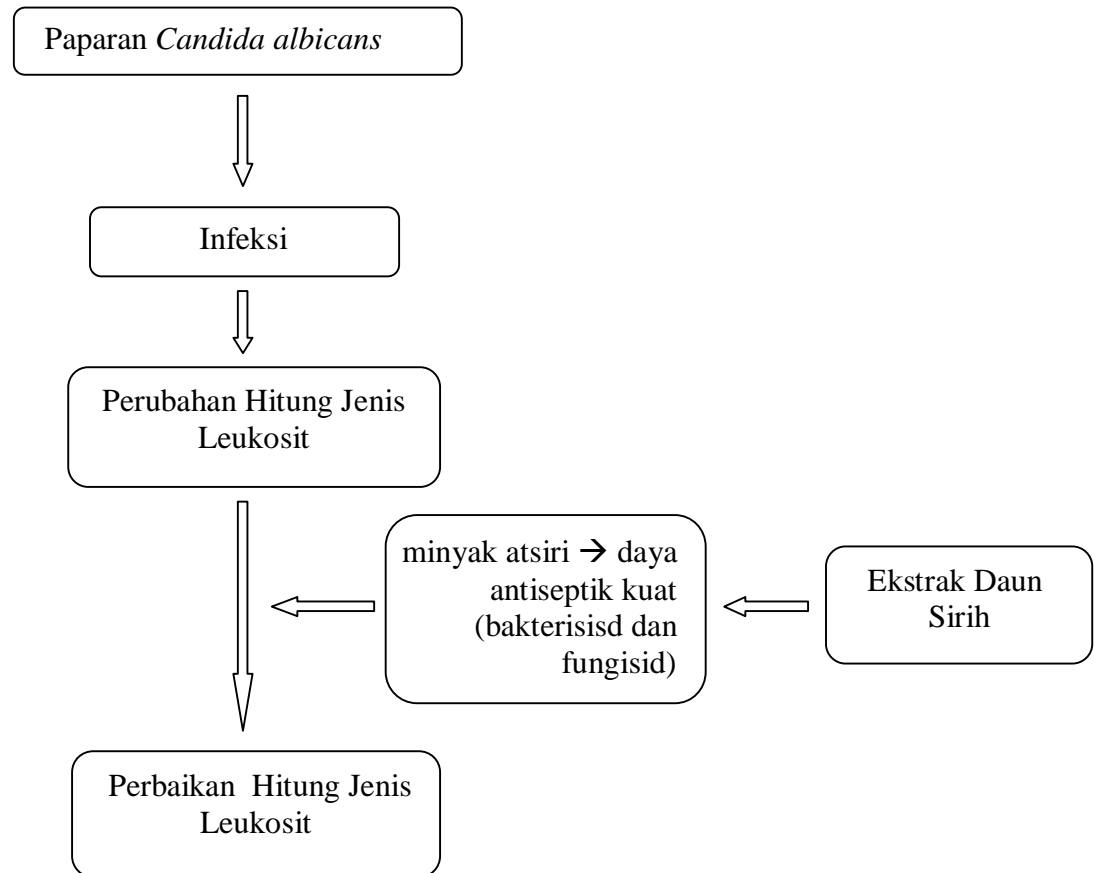
Kenaikan hitung jenis monosit tidak sering terjadi. Keadaan berikut ini mungkin dapat mengakibatkan jumlah monosit meningkat misalnya pada infeksi

bakteri kronis, tuberkulosis, tifus abdominalis, penyakit protozoa, neutropeni kronis, penyakit Hodgkin, leukemia mikositik dan monositik. Penurunan monosit disebabkan oleh karena pemberian prednisone dan pada penyakit hairy cell leukemia (Hoffbrand, 1996).

Peningkatan eosinofil terjadi pada penyakit alergi, penyakit parasit, pemulihan dari infeksi akut, penyakit kulit, penyakit Hodgkin dan tumor, sensitifitas terhadap obat, eosinofilia pulmoner dan jarang terjadi pada leukemia eosinofilik. Keadaan yang menyebabkan penurunan jumlah eosinofil seperti pada keadaan inflamasi akut, pada penyakit Cushing Syndrome (Hoffbrand, 1996).

Jumlah basofil jaringan meningkat pada reaksi hipersensitifitas, tetapi leukositosis basofilik dalam sirkulasi jarang dijumpai. Jumlah absolut basofil dalam sirkulasi meningkat pada leukemia mielositik kronik dan polisitemia vera, tetapi persentasenya dalam hitung jenis hanya berubah sedikit (Widmann, 1995).

2.6 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.8 Kerangka Konsep Penelitian

2.7 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) memiliki kandungan minyak atsiri yang mempunyai daya antiseptik yang sangat kuat (bakterisid dan fungisid) tetapi tidak sporosid. Minyak atsiri dilaporkan mempunyai efek cytophylactic, merangsang sistem imun untuk mencegah infeksi, termasuk *Candida albicans* yang mengandalkan perubahan imunitas pejamu untuk menginfeksi pada tubuh.

Pemaparan *Candida albicans* secara intrakutan akan mempercepat proses terjadinya infeksi. Infeksi ini akan menyebabkan terganggunya imunitas humoral

maupun seluler pejamu. Dengan demikian, akan terjadi penurunan hitung jenis leukosit pada darah seiring dengan infeksi yang terjadi. Dengan pemberian daun sirih yang mempunyai efek meningkatkan respons imun, maka infeksi dari *Candida albicans* dapat dihambat sehingga diharapkan hitung jenis leukosit dapat dipertahankan.

2.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesa dari penelitian ini yaitu pemberian ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) dapat menyebabkan perbedaan persentase hitung jenis leukosit pada model hewan coba tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* dengan injeksi intrakutan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis *eksperimental laboratoris*. Penelitian ini berupa perlakuan atau intervensi terhadap suatu variabel sehingga diharapkan terjadi pengaruh terhadap variabel yang lain dengan rancangan penelitian *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah perlakuan diberikan (Notoatmojo, 2005).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Tempat pelaksanaan penelitian ini di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Klinik Jember Medical Center.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian adalah bulan Mei 2011.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hitung jenis leukosit darah tepi dalam darah tikus wistar.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Minuman dan makanan standar tikus
- b. Cara pemeliharaan
- c. Dosis dan teknik pemberian ekstrak daun sirih
- d. Jumlah dan teknik inokulasi *Candida albicans*
- e. Waktu pengambilan sampel

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*)

Ekstrak daun sirih merupakan ekstrak yang dibuat dari daun sirih yang telah dihaluskan dan dimaserasi dengan etanol 96% selama 24 jam kemudian di evaporasi hingga didapatkan ekstrak kering. Lalu ekstrak kering tersebut dilakukan pengenceran dengan aquadest sebanyak 1000 ml. Ekstrak daun sirih diberikan secara peroral sebanyak 3 ml / 200 gr BB selama 6 hari setelah tikus terinfeksi *candida*.

3.4.2 Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi

Hitung jenis leukosit adalah penghitungan dan pengelompokan sesuai jenis leukosit yang tampak pada hapusan darah per 100 sel leukosit yang dilihat di bawah mikroskop binokuler pada tiap kamar hitung dengan pembesaran 100x.

3.4.3 Darah Tepi

Darah tepi adalah darah yang beredar di seluruh tubuh dan darah diambil intrakardial.

3.4.4 *Candida albicans*

Candida albicans merupakan candida jenis wild type yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *Candida albicans* pengenceran 10^{-8} dipapar secara intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB.

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan.

3.5.2 Sampel

Kriteria sampel yang digunakan adalah:

- a. Tikus putih galur wistar jantan
- b. Berat badan 100-200 gram
- c. Berusia 2-3 bulan
- d. Tikus dalam keadaan sehat

3.5.3 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma D^2}{\delta^2}$$

Keterangan:

n : besar sampel minimal

- Z_{α} : 1,96
 Z_{β} : 0,85
 σD^2 : diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$
 α : tingkat signifikan (0,05)
 β : 1-p, $\beta=20\%=0,2$
p : keterpercayaan penelitian
 α, D, δ : merupakan simpangan baku dari populasi

Dari rumus diatas didapatkan besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian 7,896 yang dibulatkan menjadi 8 untuk masing- masing kelompok (Steel dan Torrie, 1995).

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat- Alat Penelitian

Alat penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang pemeliharaan
- b. Kandang perlakuan
- c. Tempat makan dan minum
- d. Sonde lambung
- e. Pinset
- f. Timbangan untuk hewan coba (neraca Ohaus, Germany)
- g. Scalpel dan gunting bedah
- h. Sarung tangan (Latex)
- i. Masker
- j. *Disposable syring* 2,5 cc
- k. Botol untuk penampung darah
- l. Rotarovapor
- m. *Object glass* dan *Cover glass*
- n. Mikroskop binokuler

- o. Saringan
- p. Papan fiksasi

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Tikus putih galur wistar jantan
- b. Minuman dan makanan standar tikus yang beredar di pasar
- c. Daun sirih kemudian dibentuk dalam sediaan ekstrak dengan konsentrasi 75%
- d. Minyak emersi
- e. Cat Wright's Stain
- f. Aquades steril
- g. *Candida albicans*
- h. *Ethylenediamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) 10%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

Tikus wistar jantan diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama 1 minggu, diberi makan standar dan air minum setiap hari secara adlibitum (sesukanya). Selanjutnya tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak.

3.7.2 Persiapan Daun Sirih

a. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih

Daun sirih (*Piper Betle L*) 0,5 kg, dicuci dan di angin-anginkan hingga kering. Kemudian, daun sirih dihaluskan menggunakan blander. Sediaan Serbuk daun sirih dimaserasi menggunakan etanol 96% sampai 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserat dievaporasi dalam rotary evaporator dalam suhu 40-50°C hingga didapat ekstrak kering daun sirih (Rahmawati, 2009).

b. Pembuatan Serial Konsentrasi dari Ekstrak Daun Sirih

Ekstrak kering daun sirih kemudian dibuat larutan stock dan dibuat konsentrasi larutan yang diujikan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Larutan stock dibuat dengan melarutkan 5 gram ekstrak daun sirih kering dalam 1000 ml air sehingga didapatkan konsentrasi 5000 ppm.
2. Untuk menentukan banyaknya larutan stock yang dibutuhkan dihitung dengan persamaan:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

keterangan :

V_1 : volume awal (volume larutan stock yang dibutuhkan)

M_1 : konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak)

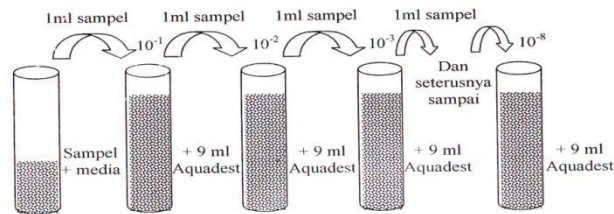
V_2 : volume kedua (volume larutan ekstrak daun sirih yang diujikan)

M_2 : konsentrasi kedua (konsentrasi ekstrak daun sirih yang diinginkan) (Brady, 1994).

Berdasarkan persamaan diatas, dilakukan perhitungan dan didapat bahwa untuk mendapatkan konsentrasi 0,01% larutan yang diujikan dibutuhkan jumlah larutan stock, untuk mendapatkan konsentrasi 0,1% dibutuhkan 20 ml larutan stock dan untuk mendapatkan konsentrasi 0,5% dibutuhkan 100 ml larutan stock.

3.7.3 Tahap Persiapan *Candida Albicans*

Stok *Candida albicans* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengenceran *Candida albicans* dilakukan sampai 10^{-8} . Pada serial pengenceran ini, masing- masing tabung dikocok atau difortek.



Gambar 3.1 Cara Pengenceran *Candida albicans*

3.7.4 Tahap Perlakuan Hewan Coba

Kelompok I adalah kelompok kontrol (tikus tidak diberi perlakuan). Kelompok II, tikus dipapar dengan *Candida albicans* secara intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB pada hari pertama (Barid, 2008). Kelompok III, tikus dipapar dengan *Candida albicans* pada hari pertama lalu tikus diberi ekstrak daun sirih peroral sebanyak 3 ml / 200 gr BB menggunakan sonde lambung dari hari ke-2 sampai hari ke-7.

3.7.5 Tahap Pengambilan Darah

Hari ke-10, hewan coba dianastesi secara inhalasi, setelah itu dilakukan pengambilan darah intra kardial dengan syringe. Lalu darah tersebut ditampung dalam botol tempat penampung darah yang sebelumnya diberi bahan antikoagulan (EDTA) dengan perbandingan setiap 1 ml darah membutuhkan 1 mg EDTA dan segera darah dikocok pelan-pelan dengan gerakan melingkar di atas meja supaya darah dan bahan antikoagulan tercampur merata (Sulistiyani, 2010).

Pembuatan sediaan hapusan darah :

1. Setetes darah diambil dari botol penampung darah, kemudian diletakkan 1 cm dari salah satu ujung dari *object glass*.
2. *Deck glass* dipegang sedemikian rupa sehingga membentuk sudut 30^0 dengan *object glass* dan tetesan darah tadi terletak di dalam sudut tersebut.
3. *Deck glass* digeserkan ke arah tetesan darah sehingga menyentuhnya dan darah tadi akan dibiarkan merata antara ujung *deck glass* dan *object glass*.

4. Dengan cepat *deck glass* digeserkan ke arah yang bertentangan dengan arah pertama. Dengan demikian arah tadi akan merata di atas *object glass* sebagai lapisan yang tipis.
5. Hapusan tersebut segera dikeringkan dengan menggerak-gerakkannya di udara atau dapat dipakai kipas angin dan diberi tanda sesuai dengan perlakuan. Jangan ditiup dengan hembusan nafas.
6. Tebalnya lapisan darah tergantung dari besarnya tetesan darah, cepatnya menggeserkan *deck glass*, dan sudut antara *deck glass* dan *object glass*. Gerakan yang pelan atau sudut yang lebih kecil dari 30^0 akan menghasilkan lapisan darah yang tipis dan sebaliknya pergeseran yang cepat atau sudut yang lebih besar dari 30^0 akan menghasilkan lapisan darah yang tebal.
7. Leukosit-leukosit tidak boleh menggerombol di bagian hapusan (*feather edge*). Bila ini terjadi maka distribusi dari macam-macam leukosit tidak representative. Gerakan yang terlalu pelan atau *deck glass* yang kotor dapat menyebabkan kesalahan ini.
8. Mengeringkan hapusan dengan segera penting sekali. Bila tidak, maka eritrosit-eritrosit akan mengalami kerusakan-kerusakan (krenasi) dan memudahkan terjadinya rouleau leukosit-leukosit akan mengkerut.
9. Hapusan darah yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan Wright's stain pada hapusan darah sehingga tertutup seluruhnya sekitar ± 2 menit.
10. Pengecatan dilanjutkan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya (sama $1 \frac{1}{2} \times$ banyaknya) pada Wright's stain tadi. Buffer dan Wright's stain dicampur dengan jalan meniup-niup beberapa kali. Tunggu ± 20 menit sehingga sel-sel tercatat dengan baik hingga terbentuk metalik scum.
11. Bilas dengan aquades atau air biasa, dengan cara aquadest dituangkan pada hapusan yang berada di atas rak sehingga semua cat hanyut.
12. Hapusan darah diletakkan pada sisi rak dan ditunggu sampai kering.
13. Pemeriksaan hapusan darah menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 100x, dimana permukaan hapusan darah diberi minyak emersi.

3.7.6 Pengukuran Hitung Jenis Leukosit

Penghitungan jenis leukosit dilakukan dengan mengadakan identifikasi jenis leukosit per 100 leukosit. Jenis sel leukosit pada hitung jenis yaitu eosinofil, basofil, stab neutrofil, segmen neutrofil, limfosit dan monosit. Penghitungan ini dilakukan pada daerah penghitung. Dimulai dari satu sisi dan bergerak menuju sisi yang lain. Untuk memudahkan penghitungan dapat digunakan kolom-kolom untuk macam-macam leukosit dan masing-masing dibagi 10. Leukosit yang kita lihat mulai-mula dicatat pada kolom no.1. Bila jumlahnya sudah sepuluh, pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya. Jadi tiap-tiap kolom mengandung 10 leukosit.

Tabel 3.1 kolom hitung jenis leukosit (Sulistiyani,2010)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
Eo											
Ba											
St											
Seg											
Ly											
Mo											

Hasil yang didapat dapat ditulis sebagai berikut:

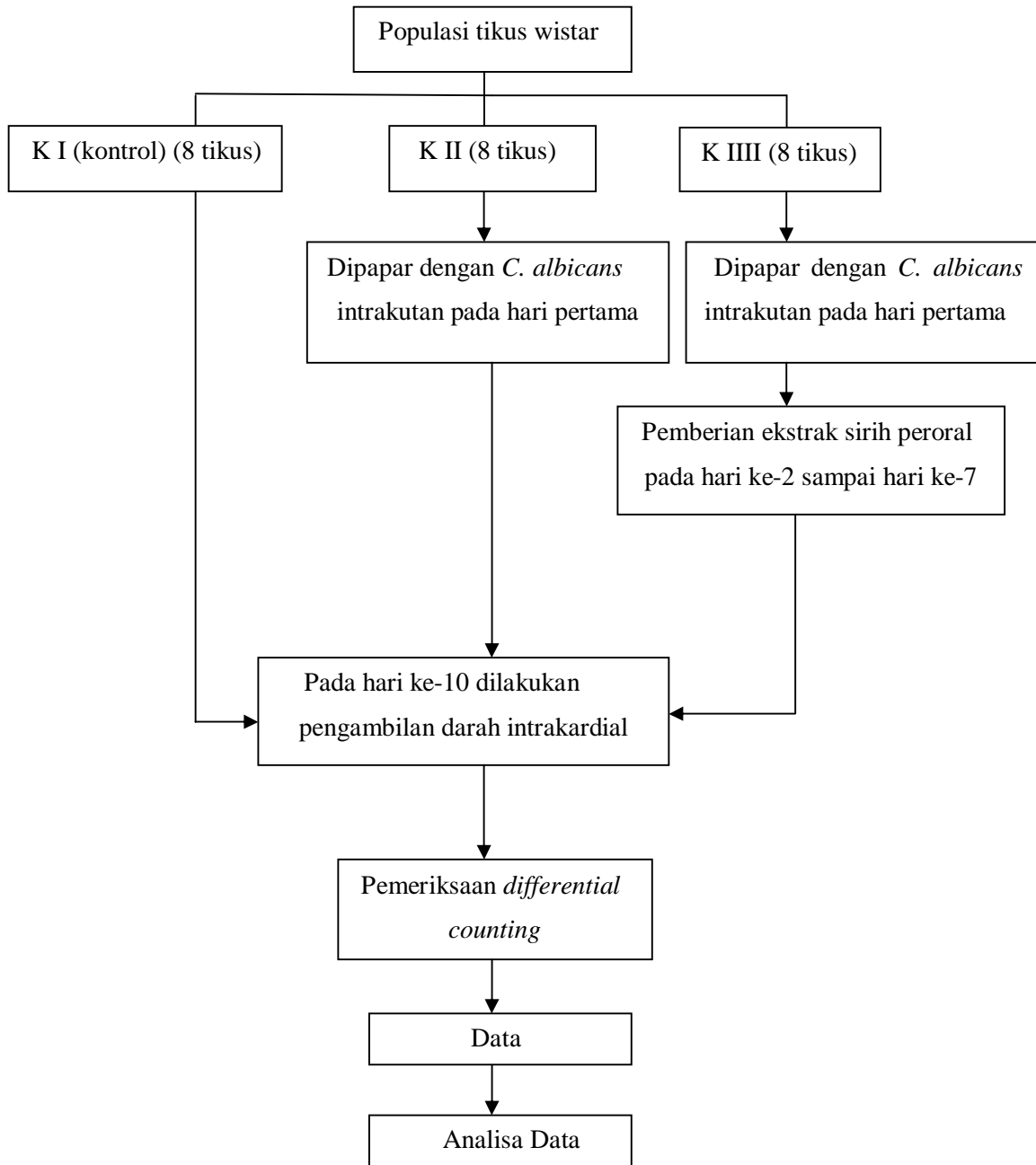
Eos/ Bas/Stab/Seg/Limfo/Mono

.... / / /..... / /

3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* ($p < 0,05$) untuk mengetahui perbedaan hitung jenis leukosit antara kelompok kontrol, kelompok yang dipapar *C. albicans*, dan kelompok yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak daun sirih. Untuk mengetahui perbedaan dari tiap-tiap kelompok tersebut dilakukan uji *Tukey HSD* ($p < 0,05$)

3.9 Skema Penelitian



Gambar 3.2 Skema Penelitian

BAB 4. HASIL DAN ANALISIS DATA

4.1 Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Klinik Jember Medical Center mengenai efek pemberian ekstrak daun sirih terhadap hitung jenis leukosit darah tepi pada tikus wistar jantan yang terinfeksi *Candida albicans* adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Pada Sampel Kelompok I, Kelompok II dan Kelompok III

Kelompok	Eos (X±SD)	Stab (X±SD)	Seg (X±SD)	Limfo (X±SD)	Mono (X±SD)
I	0,88±0,83	0,75±0,89	72,13±12,40	24,50±12,43	2,13±0,83
II	0,75±0,89	1,25±1,04	55,25±9,42	40,50±10,47	2,25±0,46
III	0,50±0,53	1,13±0,64	61,25±12,15	35,63±12,37	2,13±0,63

Ket: I = kel. kontrol
II = kel. yang dipapar *C. albicans*
III = kel. yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak daun sirih

Berdasarkan tabel 4.1 di atas, hasil penelitian pemeriksaan hitung jenis leukosit menunjukkan bahwa rata-rata jumlah eosinofil pada kelompok kontrol (K I) adalah 0,88. Rata-rata jumlah eosinofil menurun pada kelompok yang dipapar *C.*

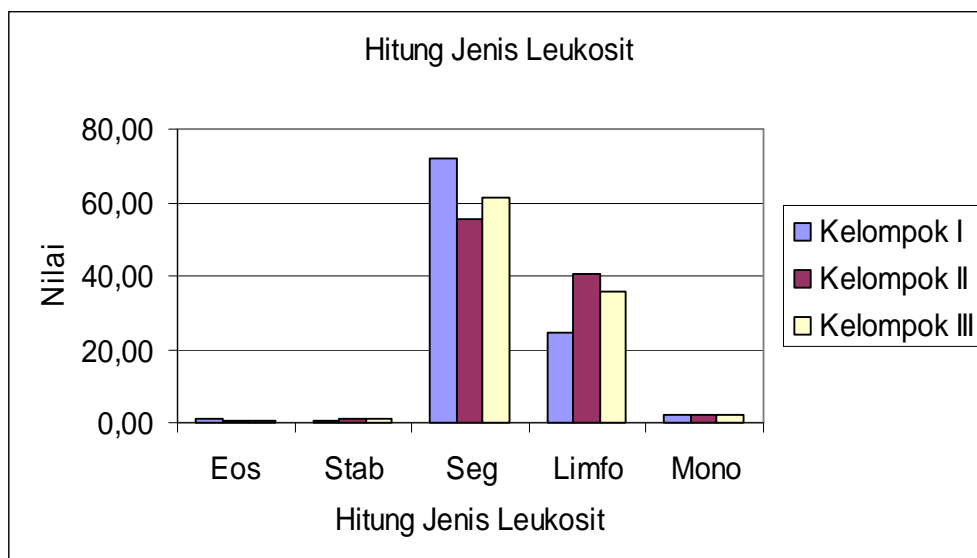
albicans (K II) menjadi 0,75 dan meningkat kembali pada kelompok yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak daun sirih (K III) menjadi 0,50.

Selanjutnya rata-rata presentase stab neutrofil pada kelompok kontrol (K I) adalah 0,75. Pada kelompok II, rata-rata fraksi meningkat menjadi 1,25 dan menurun pada kelompok III menjadi 1,13. Sedangkan untuk rata-rata presentase segmen neutrofil pada kelompok kontrol (K I) adalah 72,13. Rata-rata fraksi menurun pada kelompok II menjadi 55,2. Pada kelompok III, rata-rata fraksi meningkat menjadi 61,25.

Rata-rata presentase limfosit pada kelompok kontrol (K I) adalah 24,50. Rata-rata fraksi ini meningkat pada kelompok II menjadi 40,50. Pada kelompok III, rata-rata fraksi menurun menjadi 35,63.

Selanjutnya rata-rata presentase monosit pada kelompok kontrol (K I) adalah 2,13. Sedangkan pada kelompok II, rata-rata fraksi sedikit meningkat menjadi 2,25. Pada kelompok III, rata-rata fraksi kembali seperti awal yaitu 2,13.

Setelah mengetahui rata-rata hasil pengukuran hitung jenis leukosit, selanjutnya data ditabulasi ulang dalam bentuk grafik:



Gambar 4.1 Diagram Batang rata-rata hasil hitung jenis leukosit

Ket: I = kel. kontrol
II = kel. yang dipapar *C. albicans*
III = kel. yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak daun sirih

4.2 Analisa Data

Analisa data penelitian didahului dengan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal kemudian uji homogenitas varian untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi-populasi tersebut sama.

Berdasarkan uji normalitas kolmogorov-smirnov kelompok I (kontrol), kelompok II, dan kelompok III didapatkan nilai probabilitas adalah $p > 0.05$, berarti data penelitian tersebut terdistribusi normal.

Berdasarkan uji statistik homogenitas Levene's hitung jenis leukosit, terlihat bahwa nilai probabilitas eosinofil 0,350, stab neutrofil nilai probabilitas 0,249, segmen neutrofil nilai probabilitas 0,729, limfosit nilai probabilitas 0,869, dan monosit nilai probabilitas 0,924; karena pada hitung jenis leukosit $p > 0,05$ berarti ragam semua perlakuan adalah sama (homogen).

Uji statistik berikutnya yang dilakukan untuk hitung jenis leukosit adalah uji parametrik yaitu dengan uji analisis *One Way Anova* dengan kemaknaan $p = 0,05$. Berdasarkan hasil analisa *One Way Anova* maka diperoleh data bahwa nilai probabilitas eosinofil 0,617, stab neutrofil nilai probabilitas 0,500, segmen neutrofil nilai probabilitas 0,024, limfosit nilai probabilitas 0,037, dan monosit nilai probabilitas 0,910. Hal ini berarti bahwa pada segmen neutrofil dan limfosit terdapat perbedaan bermakna antarkelompok karena $p < 0,05$. Sedangkan untuk eosinofil, stab neutrofil, dan monosit $p > 0,05$, sehingga tidak terdapat perbedaan bermakna antarkelompok.

Dari hasil uji Tukey HSD antara kelompok I dan kelompok II dapat diketahui probabilitas eosinofil ($p = 0,943$), stab neutrofil ($p = 0,495$), monosit ($p = 0,925$), hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Sedangkan

probabilitas segmen neutrofil ($p=0,020$) dan limfosit ($p=0,033$) menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,05$). Antara kelompok I dan kelompok III dapat diketahui probabilitas eosinofil ($p=0,599$), stab neutrofil ($p=0,699$), segmen limfosit ($p=0,161$), limfosit ($p=0,167$), dan monosit ($p=1,000$). Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Sedangkan antara kelompok II dan kelompok III dapat diketahui probabilitas eosinofil ($p=0,794$), stab neutrofil ($p=0,956$), segmen neutrofil ($p=0,553$), limfosit ($p=0,691$), dan monosit ($p=0,925$). Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$).

Berdasarkan keseluruhan analisa data diatas dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna pada hitung jenis leukosit antara kelompok I dan kelompok II. Perbedaan tersebut ada pada fraksi segmen neutrofil dan limfosit. Pada kelompok II, hitung jenis leukosit bergeser ke fraksi limfosit. Sedangkan antara kelompok I dan kelompok III didapatkan hasil berbeda tapi tidak bermakna, begitu juga halnya dengan kelompok II dan kelompok III.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan tiga kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus wistar jantan. Kelompok I adalah kelompok kontrol, yaitu tikus yang tidak diberi perlakuan. Kelompok II, pada hari pertama tikus dipapar dengan *Candida albicans* pengenceran 10^{-8} secara intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB (Barid, 2008). Kelompok III, pada hari pertama tikus dipapar dengan *Candida albicans* sama seperti pada tikus kelompok II lalu tikus diberi perlakuan dengan ekstrak daun sirih secara peroral sebanyak 3 ml / 200 gr BB dengan menggunakan sonde lambung dari hari ke-2 sampai hari ke-7. Pada hari ke-10, hewan coba dilakukan pengambilan sampel darah secara intrakutan untuk diukur hitung jenis leukositnya. Pengamatan hitung jenis leukosit dilakukan karena hitung jenis leukosit dapat menggambarkan respon imun dari tikus.

C. albicans disuntikkan secara intrakutan pada tikus, tepatnya pada bagian punggung. Sebelumnya, bulu dicukur terlebih dahulu untuk mempermudah penyuntikan. Tikus di papar *Candida albicans* dengan tujuan untuk menimbulkan adanya infeksi sehingga dapat menimbulkan terjadinya inflamasi.

Hasil analisis data menggunakan uji *one way annova* terhadap hitung jenis leukosit terdapat perbedaan yang signifikan yaitu pada segmen neutrofil dengan nilai probabilitas 0,024 dan limfosit dengan nilai probabilitas 0,037 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antarkelompok untuk segmen neutrofil dan limfosit. Sedangkan untuk eosinofil, stab neutrofil, dan monosit tidak terdapat perbedaan bermakna antarkelompok karena $p > 0,05$.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Jember Medical Center didapatkan hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hitung jenis leukosit pada masing-masing kelompok bila dilihat berdasarkan nilai rata-rata. Dengan menggunakan uji Tukey HSD, menunjukkan bahwa hanya terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok I (kontrol) dan kelompok II (kelompok yang dipapar *C. albicans*) untuk segmen neutrofil dan limfosit. Sedangkan antara kelompok I dan kelompok III (kelompok yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak sirih) didapatkan hasil berbeda tapi tidak bermakna, begitu juga halnya dengan kelompok II dan kelompok III.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan antara kelompok I (kontrol) dan kelompok II (kelompok yang dipapar *C. albicans*). Pada kelompok II, yaitu kelompok tikus yang dipapar *C. albicans* terjadi peningkatan prosentase limfosit. Infeksi *C. albicans* dapat menyebabkan jumlah limfosit meningkat akibat reaksi adanya peradangan kronis. Menurut Hoffbrand (1996), Limfosit T berperan untuk imunitas yang diperantarai sel (misalnya melawan organisme intraseluler termasuk banyak bakteri, virus, protozoa, dan jamur). Hal ini sesuai dengan literature yang ada bahwa limfosit akan meningkat pada penyakit infeksi dan inflamasi kronik (Widmann, 1995).

Adanya infeksi *candida* pada tikus akan menyebabkan tikus mengalami infeksi sistemik. *Candida* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah (Jawetz, 1996). Hal inilah yang menyebabkan perubahan pada jumlah sel-sel darah putih, terutama limfosit dan neutrofil. Seperti kita ketahui bahwa sel darah putih sangat penting untuk melindungi tubuh dari serangan benda asing penyebab infeksi.

Infeksi *candida* selanjutnya dapat menimbulkan peradangan dalam tubuh. Radang yang ditimbulkan oleh *candida* bersifat kronis. Perubahan yang terjadi dapat berlangsung berminggu, bulan atau bahkan bertahun. Hal ini menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi. (Lawler, 1992).

Kelompok II (kelompok yang dipapar *C. albicans*) dan kelompok III (kelompok yang dipapar *C. albicans* dan diberi ekstrak sirih) menunjukkan hasil berbeda tapi tidak bermakna. Hal ini berarti bahwa persentase hitung jenis leukosit pada kelompok III tidak begitu berbeda dengan kelompok perlakuan.

Kelompok I dan kelompok III menunjukkan hasil berbeda tapi tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak sirih dapat mengakibatkan pergeseran hitung jenis leukosit. Tetapi pergeseran hitung jenis leukosit yang terjadi sangat kecil sehingga dalam analisis data dikatakan terdapat perbedaan tapi tidak bermakna antara kelompok I dan kelompok III serta antara kelompok II dan kelompok III.

Berdasarkan keterangan di atas, dapat disimpulkan bahwa differential counting pada kelompok III yang diberi ekstrak daun sirih tidak berbeda secara signifikan baik dengan kelompok kontrol maupun kelompok yang dipapar *candida* saja. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik pergeseran yang terjadi pada kelompok III telah terjadi tetapi tidak terlalu signifikan.

Koesmiati (1996) menyatakan bahwa komponen penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari 82,8% senyawa fenol dan 18,2% senyawa bukan fenol. Senyawa fenol sebagai turunan dari alkohol memiliki sifat pelarut lemak yang mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel jamur akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim-enzim (Binarupa Aksara, 1993). Zat anti mikroba yang

terkandung dalam ekstrak daun sirih dapat merusak dinding sel dari jamur, sehingga menyebabkan pertumbuhan jamur menjadi lambat/terhambat. Senyawa-senyawa fenol mampu memutuskan ikatan silang peptidoglikan untuk dapat menerobos dinding sel jamur. Ekstrak daun sirih diketahui juga dapat menghambat pertumbuhan spora jamur. Ekstrak daun sirih juga mengandung asam volatile yang berfungsi untuk menurunkan derajat kemasaman dari media tumbuh jamur, sehingga menghambat pertumbuhan dari jamur.

Jumlah sel-sel eosinofil dan monosit tidak begitu mengalami perubahan yang berarti. Menurut Dharma (2009), jumlah basofil, eosinofil, dan monosit yang kurang dari normal kurang bermakna dalam klinik. Pada hitung jenis leukosit pada orang normal, sering tidak dijumpai basofil maupun eosinofil.

Terdapat beberapa faktor lain yang dapat menyebabkan hasil penelitian ini berbeda dengan hipotesis yang menyebutkan bahwa ekstrak sirih dapat mengakibatkan pergeseran hitung jenis leukosit pada tikus yang dipapar *candida*. Faktor-faktor tersebut kemungkinan disebabkan oleh faktor tenaga laboratoris secara fisik maupun psikis saat melakukan penelitian serta *candida albicans* dan ekstrak daun sirih yang tidak adekuat. Selain itu kemungkinan juga karena kurang lengkapnya alat yang digunakan atau dosis ekstrak yang diberikan terlalu rendah. Hal ini karena berdasarkan trial yang di lakukan sebelum penelitian di dapatkan bahwa ekstrak daun sirih dapat memberikan efek bila diberikan secara peroral sebanyak 3 ml / 200 gr BB.

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan presentase hitung jenis leukosit untuk limfosit dan penurunan segmen neutrofil pada kelompok yang dipapar *Candida albicans* dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, tidak ada efek pemberian ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) 75%, 3 ml terhadap pergeseran hitung jenis leukosit pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* dengan injeksi pada intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat peningkatan presentase hitung jenis leukosit untuk limfosit dan penurunan segmen neutrofil pada kelompok yang dipapar *Candida albicans* dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Tidak terdapat efek pemberian ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) 75%, 3 ml terhadap perubahan hitung jenis leukosit pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* dengan injeksi pada intrakutan sebanyak 0,9 cc / 200 gr BB.

4.2 Saran

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam penelitian ini, antara lain:

1. Sebaiknya dilakukan penambahan waktu perlakuan pemberian ekstrak daun sirih agar hasil yang diperoleh lebih baik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak sirih dan toksisitasnya dalam menghambat pertumbuhan *candida*.

DAFTAR BACAAN

- Ajeng. 2010. *Keputihan Karena Jamur*. Dikutip dari: [http:// www.muslimah.web.id](http://www.muslimah.web.id). [10 November 2010].
- Astrini,W.S. 2001. *Khasiat Serbaguna Daun Sirih*. Dikutip dari: <http://www.wikipedia.org>. [10 November 2010].
- Baker, H. J., Lindsey, R. dan Weishbroth, S.H. 1976. *The Laboratory Rat Vol I Biology and Disease*. San Diego: Academic Press.
- Barid, Endahyani, Rahayu, Kurniawati, Yustisia. 2008. *Petunjuk Praktikum Biologi Mulut II (Mikroflora Rongga Mulut dan Response Imun)*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Brady, J.E. 1994. *Kimia Universitas Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Candra, E.R. 2009. *Candida albicans*. Dikutip dari: <http://ercd.blogspot.com>. [10 November 2010]
- Dharma, R., Immanuel, S., dan Wirawan, R. 2009. Penilaian Hasil Pemeriksaan Hematologi Rutin. *Cermin Dunia Kedokteran No.30*. Dikutip dari: <http://www.kalbe.co.id> . [10 November 2010].
- Elya, B dan Soemiati, A. 2002. Uji Pendahuluan Efek Kombinasi Antijamur Infus Daun Sirih (*Piper Betle L.*), Kulit Buah Delima (*Punica Granatum L.*), dan Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica Val.*) Terhadap Jamur Candida. *Makara, Seri Sains, Vol.6, No.3*. Jakarta: Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia
- Fakhrizal, T. 2009. *Sel Darah Putih*. Dikutip dari <http://tfakhrizalspd.wordpress.com>. [10 November 2010].
- Handayani, L., dan Maryani, H. 2002. *Mengatasi Penyakit Pada Anak Dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Hendrawati. 2010. *Candida albican*. Dikutip <http://mikrobia.files.wordpress.com>. [10 November 2010].
- Hoffbrand, A.V., dan Pettit, J.E. 1996. *Kapita Selekt Haematologi*. Jakarta: EGC.

- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20*. Jakarta: EGC.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., dan Kelley, R.O. 1998. *Histologi Dasar. Edisi 8*. Alih Bahasa Jan Tambajong. Jakarta: EGC.
- Lawler, W., Ahmed, A., dan William, J.H. 1992. *Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.
- Leeson, C.R. Leeson, T.S., dan Paparo, A.A. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Alih bahasa Jan Tambajong. "Texbook of Histology". Jakarta: EGC.
- Lewis, M.A.O. dan Lamey, P.J. 1993. *Clinical Oral Medicine*. Great Britain: Bath Press.
- Maddy, K. 2009. *Leukosit*. Dikutip dari <http://leukosit.blogspot.com>. [10 November 2010].
- Marsh, P. dan Martin, M.V. 1999. *Oral Microbiology. Edisi 4*. Oxford: Reed Educational Professional Publishing Ltd.
- Moeljanto, R.D. dan Mulyono. 2003. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih, Obat Mujarab dari Masa Ke Masa*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Kesehatan Anak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Muslich, A. 1999. Pengaruh Larutan Infusa Daun Sirih Terhadap Pembentukan Kolagen Pada Socket Gigi Marmot. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi Edisi Khusus VI. Vol: 2*. Jakarta: FKG USAKTI.
- Muziro. 2010. *Leukosit*. Dikutip dari: <http://leukosit.blogspot.com>. [10 November 2010].
- Notoatmojo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan. Cetakan Ketiga*. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Parwata, O., Rita, W.S., dan Yoga, R. 2009. Isolasi Dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia 3 (1), Januari 2009 : 7-13* Bali: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.

- Rahmawati, F. 2009. *Manfaat Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum) Untuk Mematikan Nyamuk Aedes Aegypti*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Raskin, R.E. 2000. Erythrocytes, leukocytes, and platelets. Di dalam: Stephen J Birchard, Robert G. Sherding, editor. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. Ed ke-2. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Robbins, S.L. dan Kumar, V. 1995. *Buku Ajar Patologi I*. Jakarta:EGC.
- Steel, R.G. dan Torrie, J.H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika. Edisi 2*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Sudarmo, S. 2005. *Pestisida Nabati, Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta : Kanisius.
- Suhartini. 2008. *Darah*. Dikutip dari: digilib.unimus.ac.id/pdf. [11 November 2010].
- Sulistiyani, E. 2010. *Petunjuk Praktikum Patologi Klinik*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Tjokonegoro dan Sudarso, S. 1999. *Metodologi Penelitian Bidang Kedokteran. Cetakan Ketiga*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Indonesia.
- Thomson, A.D.1997. *Catatan Kuliah Patologi*.Jakarta: EGC
- Vansteenhuse, J.L. 2006. Clinical pathology. Di dalam: Dennis M Mccumin, Joanna Bassert, editor. *Clinical Textbookfor Veterinary Technicians*.Ed ke-6. Missouri: Elsevier Saunders
- Waterbury, L. 1998. *Buku Saku Hematologi*; alih bahasa: Sugi Sahandi. Jakarta: EGC.
- Winarto, H. dan Wibowo, N. 2004. *Peran Imunitas Seluler local pada Kandidosis Vulvovagina Rekurens*. Dikutip dari : www.tempo.co.id. [10 November 2010].
- Widmann, F.K. 1995. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi 9*. Alih Bahasa Bagian Patologi Klinik FKUI/RSCM. "Clinical Intrepretation of Laboratory Test". Jakarta: EGC

LAMPIRAN

Lampiran A. Penghitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma D^2}{\delta^2}$$

Keterangan:

n : besar sampel minimal

Z α : 1,96

Z β : 0,85

σD^2 : diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$

α : tingkat signifikan (0,05)

β : 1-p, $\beta = 20\% = 0,2$

p : keterpercayaan penelitian

α, D, δ : merupakan simpangan baku dari populasi

$$\begin{aligned} n &= (1,96 + 0,85)^2 \\ &= 7,896 \end{aligned}$$

Dari rumus diatas didapatkan besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian 7,896 yang dibulatkan menjadi 8 untuk masing- masing kelompok (Steel dan Torrie, 1995).

Lampiran B. Data Hasil Pengukuran Hitung Jenis Leukosit Darah Tikus Wistar Jantan



PEMERINTAH KABUPATEN JEMBER
DINAS KESEHATAN
UPT. JEMBER MEDICAL CENTER
Alamat: Jalan Gajah Mada No.206 Telp/Fax.(0331) 483725 Jember 68131

HASIL PEMERIKSAAN KADAR LEKOSIT, LAJU ENDAP DARAH DAN HITUNG JENIS LEKOSIT PADA SAMPEL DARAH TIKUS

NO	TANGGAL	BAHAN/ SAMPEL	HASIL PEMERIKSAAN												
			LEKOSIT	LAJU ENDAP DARAH	HITUNG JENIS										
					E	B	St	Sg	L	M					
1	01 Juni 2011	1A	4700 /mm ³	0.3/Jam	1	/	-	/	-	/	64	/	33	/	2
2	01 Juni 2011	1B	14800 /mm ³	0.4 / Jam	2	/	-	/	-	/	51	/	45	/	2
3	01 Juni 2011	1C	8600 /mm ³	0.2 / Jam	-	/	-	/	1	/	78	/	19	/	2
4	01 Juni 2011	1D	7200 /mm ³	0.2 / Jam	1	/	-	/	2	/	64	/	34	/	2
5	01 Juni 2011	1E	13500 /mm ³	0.5 / Jam	-	/	-	/	2	/	86	/	10	/	2
6	01 Juni 2011	1F	20800 /mm ³	0.7 / Jam	1	/	-	/	-	/	80	/	18	/	1
7	01 Juni 2011	1G	18200 /mm ³	0.7 / Jam	-	/	-	/	-	/	88	/	10	/	4
8	01 Juni 2011	1H	20000 /mm ³	0.9 / Jam	2	/	-	/	1	/	68	/	27	/	2
9	01 Juni 2011	2A	9100 /mm ³	0.4 / Jam	-	/	-	/	2	/	60	/	35	/	3
10	01 Juni 2011	2B	5000 /mm ³	0.3 / Jam	1	/	-	/	-	/	48	/	49	/	2
11	01 Juni 2011	2C	11200 /mm ³	0.5 / Jam	2	/	-	/	-	/	51	/	45	/	2
12	01 Juni 2011	2D	10800 /mm ³	0.5 / Jam	-	/	-	/	1	/	68	/	29	/	2
13	01 Juni 2011	2E	14100 /mm ³	0.4 / Jam	2	/	-	/	3	/	70	/	22	/	3
14	01 Juni 2011	2F	5100 /mm ³	0.3 / Jam	-	/	-	/	1	/	50	/	47	/	2
15	01 Juni 2011	2G	9600 /mm ³	0.2 / Jam	1	/	-	/	1	/	47	/	49	/	2
16	01 Juni 2011	2H	12400 /mm ³	0.8 / Jam	-	/	-	/	2	/	48	/	48	/	2
17	01 Juni 2011	3A	8100 /mm ³	0.6 / Jam	1	/	-	/	2	/	60	/	35	/	2
18	01 Juni 2011	3B	10400 /mm ³	0.5 / Jam	-	/	-	/	1	/	51	/	45	/	3
19	01 Juni 2011	3C	14800 /mm ³	0.4 / Jam	-	/	-	/	-	/	80	/	19	/	1
20	01 Juni 2011	3D	16000 /mm ³	0.8 / Jam	1	/	-	/	1	/	78	/	18	/	2
21	01 Juni 2011	3E	8600 /mm ³	0.2 / Jam	-	/	-	/	1	/	60	/	37	/	2
22	01 Juni 2011	3F	10100 /mm ³	0.3 / Jam	1	/	-	/	1	/	56	/	40	/	2
23	01 Juni 2011	3G	7400 /mm ³	0.2 / Jam	-	/	-	/	1	/	60	/	36	/	3
24	01 Juni 2011	3H	9400 /mm ³	0.3 / Jam	1	/	-	/	2	/	45	/	55	/	2

Jember, 04 Juni 2011

Pemeriksa,

Naning Sulistyosih

NIP. 19780425 201001 2 009

Lampiran C. Hasil Analisa Data

C.1 Uji Kolmogorof Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Eosinofil	St	Sg	Limfosit	Monosit
N		24	24	24	24	24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.7083	1.0417	62.8750	33.5417	2.1667
	Std. Deviation	.75060	.85867	13.02610	13.18424	.63702
Most Extreme Differences	Absolute	.286	.228	.152	.141	.395
	Positive	.286	.228	.152	.115	.395
	Negative	-.193	-.189	-.127	-.141	-.313
Kolmogorov-Smirnov Z		1.399	1.115	.746	.690	1.934
Asymp. Sig. (2-tailed)		.040	.166	.633	.727	.001

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Data Hitung Jenis Leukosit Kelompok I, Kelompok II, Kelompok III

	Eosinofil	Stab	Segmen	Limfosit	Monosit
		Neutrofil	Neutrofil		
Sig.	0.040	0.166	0.633	0.727	0.001

C.2 Uji Levene Test

Test of Homogeneity of Variances

Eosinofil			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.103	2	21	.350

Test of Homogeneity of Variances

St

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.486	2	21	.249

Test of Homogeneity of Variances

Sg

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.321	2	21	.729

Test of Homogeneity of Variances

Limfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.141	2	21	.869

Test of Homogeneity of Variances

Monosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.079	2	21	.924

Hasil Uji Homogenitas Levene's Data Hitung Jenis Leukosit Kelompok I, Kelompok II, Kelompok III

	Levene's	Df1	Df2	Sig.
Eosinofil	1.103	2	21	0.350
Stab neutrofil	1.486	2	21	0.249
Segmen neutrofil	0.321	2	21	0.729
Limfosit	0.141	2	21	0.869
Monosit	0.079	2	21	0.924

C.3 Uji One Way Annova

ANOVA

Eosinofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.583	2	.292	.495	.617
Within Groups	12.375	21	.589		
Total	12.958	23			

ANOVA

St

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.083	2	.542	.717	.500
Within Groups	15.875	21	.756		
Total	16.958	23			

ANOVA

Sg

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1170.750	2	585.375	4.500	.024
Within Groups	2731.875	21	130.089		
Total	3902.625	23			

ANOVA

Limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1076.083	2	538.042	3.867	.037
Within Groups	2921.875	21	139.137		
Total	3997.958	23			

ANOVA

Monosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.083	2	.042	.095	.910
Within Groups	9.250	21	.440		
Total	9.333	23			

Hasil Perhitungan One Way Anova Data Hitung Jenis Leukosit Kelompok I, Kelompok II, Kelompok III

	Eosinofil	Stab Neutrofil	Segmen Neutrofil	Limfosit	Monosit
F	0.495	0.717	4.500	3.867	0.095
Sig.	0.617	0.500	0.024	0.037	0.910

C.4 Uji Tukey HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Eosinofil
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok I	Kelompok II	.1250	.38382	.943	-.8425	1.0925
	Kelompok III	.3750	.38382	.599	-.5925	1.3425
Kelompok II	Kelompok I	-.1250	.38382	.943	-1.0925	.8425
	Kelompok III	.2500	.38382	.794	-.7175	1.2175
Kelompok III	Kelompok I	-.3750	.38382	.599	-1.3425	.5925
	Kelompok II	-.2500	.38382	.794	-1.2175	.7175

Multiple Comparisons

Dependent Variable: St
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok I	Kelompok II	-.5000	.43473	.495	-1.5958	.5958
	Kelompok III	-.3750	.43473	.669	-1.4708	.7208
Kelompok II	Kelompok I	.5000	.43473	.495	-.5958	1.5958
	Kelompok III	.1250	.43473	.956	-.9708	1.2208
Kelompok III	Kelompok I	.3750	.43473	.669	-.7208	1.4708
	Kelompok II	-.1250	.43473	.956	-1.2208	.9708

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Sg

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok I	Kelompok II	16.8750*	5.70283	.020	2.5006	31.2494
	Kelompok III	10.8750	5.70283	.161	-3.4994	25.2494
Kelompok II	Kelompok I	-16.8750*	5.70283	.020	-31.2494	-2.5006
	Kelompok III	-6.0000	5.70283	.553	-20.3744	8.3744
Kelompok III	Kelompok I	-10.8750	5.70283	.161	-25.2494	3.4994
	Kelompok II	6.0000	5.70283	.553	-8.3744	20.3744

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Limfosit

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok I	Kelompok II	-16.0000*	5.89782	.033	-30.8659	-1.1341
	Kelompok III	-11.1250	5.89782	.167	-25.9909	3.7409
Kelompok II	Kelompok I	16.0000*	5.89782	.033	1.1341	30.8659
	Kelompok III	4.8750	5.89782	.691	-9.9909	19.7409
Kelompok III	Kelompok I	11.1250	5.89782	.167	-3.7409	25.9909
	Kelompok II	-4.8750	5.89782	.691	-19.7409	9.9909

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Monosit

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok I	Kelompok II	-.1250	.33184	.925	-.9614	.7114
	Kelompok III	.0000	.33184	1.000	-.8364	.8364
Kelompok II	Kelompok I	.1250	.33184	.925	-.7114	.9614
	Kelompok III	.1250	.33184	.925	-.7114	.9614
Kelompok III	Kelompok I	.0000	.33184	1.000	-.8364	.8364
	Kelompok II	-.1250	.33184	.925	-.9614	.7114

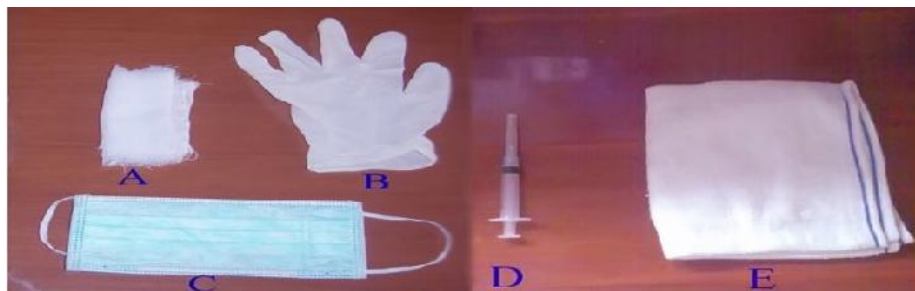
Hasil Uji Tukey HSD Data Hitung Jenis Leukosit Kelompok I, Kelompok II, Kelompok III

	K I		K II		K III	
	Seg	L	Seg	L	Seg	L
K I			0.020*	0.033*	0.161	0.167
K II	0.020*	0.033*			0.553	0.691
K III	0.161	0.167	0.553	0.691		

Ket. : * = perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Lampiran D. Foto Penelitian

D.1 Alat Penelitian



A. Kasa; B. Sarung tangan; C. Masker; D. *Dysposable Syringe*; E. Handuk



Alat seksi (pinset surgis, pinset anatomis, gunting bedah)



Sonde Lambung



Mikroskop binokuler

D. 2 Bahan Penelitian



Tikus Wistar Jantan



Candida albicans



Ekstrak daun sirih

D.3 Perlakuan



Menentukan tempat penyuntikan *Candida albicans*



Pengambilan *Candida albicans* yang telah dilakukan pengenceran



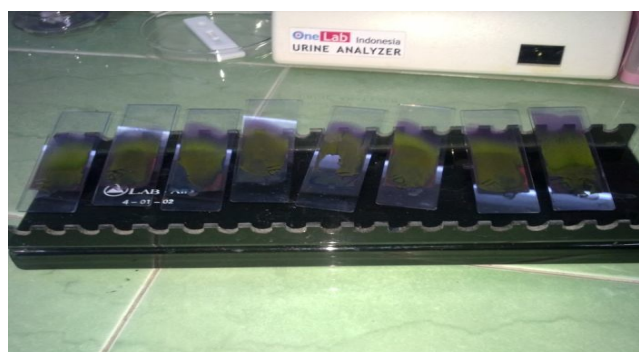
Pemberian ekstrak daun sirih dengan menggunakan sonde lambung



Bedah jantung untuk pengambilan darah



Sampel darah dari ketiga kelompok



Pengecatan hapusan darah dengan Cat Wright's Stain